Ueber den

Einfluss von Salzen

auf die Labwirkung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

in der

Medicin, Chirurgie und Geburtshilfe

unter dem Präsidium

von

Dr. Paul Grützner,

o. ö. Professor der Physiologie und Vorstand des physiologischen Instituts,

der medicinischen Facultät in Tübingen

vorgelegt

von

Gotthold Lörcher,

approb. Arzt aus Neckarwestheim.

AKAD. LUGD. BAT. BIBL.

Tübingen 1897.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552309_0116

1) Nomenclatur.

Um Missverständnissen vorzubeugen, dürfte eine kurze Auseinandersetzung über die in vorliegender Arbeit angewandte Nomenclatur nicht überflüssig sein.

Wir bezeichnen das werdende Lab, die Vorstufe des fertigen Ferments, als Labzymogen, Vorlab oder Prolab, das fertige Ferment als Labenzym, Labferment[1]) oder schlechtweg Lab. Wenn ich dagegen von Labextracten oder Lablösungen spreche, so verstehe ich darunter auch, wie übrigens aus dem Sinn der betreffenden Stellen ohne Weiteres hervorgeht, Flüssigkeiten, die beides, Ferment und Vorferment, enthalten.

Den Vorgang der Ueberführung der Zymogene in Enzyme bezeichnet Arthus[2]) als zymogénèse. Da wir aber logischer Weise, wie es auch Arthus thut, die zur ζύμη werdende Substanz, die Vorstufen der Fermente, als Zymogene bezeichnen, müssten wir nicht von Zymogenese, sondern von Enzymogenese reden. Das umformende Agens (agent zymogénique, Arthus) besonders zu bezeichnen, halten wir für entbehrlich.

Unter Gerinnung der Milch verstehen wir ganz allgemein die Ueberführung des Caseïns aus der flüssigen in die feste Form. Bei der Gerinnung unterscheiden wir zwei Unterarten, die Säure- und die Labgerinnung, und bezeichnen wie Hammarsten, Arthus[3]) und andere die erstere als Fällung (précipitation), die letztere als Verkäsung (caséification) des Caseïns.

---

1) Vgl. hierzu: Podwyssozki jun., Arch. f. d. ges. Phys. Bd. 39 S. 62. „Zur Methodik der Darstellung von Pepsinextracten."

2) M. Arthus, Nature des enzymes. Jouve éditeur. pag. 13. Paris 1896.

3) M. Arthus, Remarques sur le ferment. Arch. de phys. 5e série T. 6 pag. 258. 1894.

2) Darstellungsmethoden von Labflüssigkeiten.

Da das Lab im Verdauungstractus, so viel wir bis jetzt wissen, wohl ausschliesslich im Magen vorkommt und sich hier im Magensaft und der Magenschleimhaut als fertiges Ferment und als Vorferment findet, gibt es dementsprechend zwei Methoden, dasselbe zu gewinnen.

Aus dem Magensaft lässt es sich gewinnen: durch Aushebern resp. Ausdrücken des Magensaftes vermittelst der Magenpumpe oder des Schlauches, in verdünnter Form durch die Magenspülung, ferner durch den künstlich hervorgerufenen Brechact, durch Anlegung einer Magenfistel und endlich durch Einführung von Schwämmchen.

Bei der Darstellung von Labextracten aus der Schleimhaut handelt es sich zunächst darum, ob die frische oder getrocknete Schleimhaut benutzt werden soll. Im Allgemeinen wird für die Wahl der einen oder andern der Zweck maassgebend sein, den man mit dem Extract verfolgt.

Im Ganzen ist die getrocknete Schleimhaut vorzuziehen.

Die Trocknung schädigt das Ferment in keiner Weise, da der zur Trocknung nöthige Wärmegrad die Körpertemperatur nicht zu überschreiten braucht.

Abgesehen davon, dass das Arbeiten mit der getrockneten Schleimhaut reinlicher ist, ist es leichter, sie in gleiche Theile zu theilen, sie durch Pulverisirung gleichmässiger zu mischen, oder, wo es wünschenswerth ist, gewisse Partieen getrennt zu untersuchen. Die wesentlichsten Vorzüge bietet jedoch das Arbeiten mit der getrockneten Schleimhaut da, wo es sich darum handelt, Untersuchungen über den Gehalt der Schleimhaut an Vorferment und fertigem Ferment, an Zymogen und Enzym, anzustellen. Beim Zerquetschen und Abschaben der Schleimhaut ist es nicht zu vermeiden, dass die der Schleimhautoberfläche anhaftende Säure auch mit den tieferen Schleimhautpartieen in Berührung kommt und sehr viel Zymogen in Enzym überführt.

Die von mir später zu beschreibenden Versuche über den Enzym- und Zymogengehalt der Magenschleimhäute von Katzen haben mich hierauf aufmerksam gemacht. Es sei zum Beleg hiefür einer der Versuche angeführt.

Versuch 1.

Die Magenschleimhaut einer Katze wird in den Linien der grossen und kleinen Curvatur halbirt und die eine Hälfte frisch, die andere trocken mit gleichviel Glycerin extrahirt. Während nun das aus der frischen Schleimhaut bereitete Extract, in einer bestimmten Menge zu 10 ccm Milch gebracht, diese in 2 Stunden 25 Minuten zur Gerinnung bringt, braucht das aus der getrockneten Schleimhaut bereitete Extract, in derselben Menge zu ebensoviel Milch gesetzt, unter denselben Bedingungen 4 Stunden. Es werden nun beide Extracte durch Zusatz gleicher Volumina 0,1% HCl in Säureextracte verwandelt und aus enzym- und zymogenhaltigen Extracten in nur enzymhaltige Lablösungen verwandelt. Während das Glycerinextract aus der frischen Schleimhaut an Wirksamkeit das Extract aus der getrockneten fast um die Hälfte übertroffen hatte, dreht sich bei den Säureextracten das Verhältniss um. Das Säureextract der frischen Schleimhaut braucht 23 Minuten, das der getrockneten nur 5 Minuten[1]).

Es ist also in dem Extract der getrockneten Schleimhaut viel mehr unverwandeltes Zymogen geblieben als in dem der frischen.

Endlich bietet das Arbeiten mit getrockneter Schleimhaut bei allen vergleichenden Untersuchungen des Fermentgehalts von Thieren, die sich in verschiedenen Stadien der Verdauung befinden, nicht nur gewisse Vortheile, sondern es ist gegenüber der Untersuchung der frischen Schleimhaut die richtigere, fehlerfreiere Methode.

Die Magenschleimhaut eines verdauenden Thieres ist schwerer und grösser als die eines Thieres, dessen Magen durch langes Hungern vollständig entleert ist. Auch bei sonst gleichen Thieren kann man sich hievon durch Wägung der Schleimhäute und durch Vergleichung ihrer Fläche überzeugen. Die Magenschleimhaut eines verdauenden Thieres ist in Folge ihrer grösseren Blutfülle, ihres vermehrten Feuchtigkeitsgehalts überhaupt einmal schwerer, ferner aber auch in Folge der grösseren Ausdehnung durch den Mageninhalt grösser als die Magenschleimhaut eines Hungerthieres.

Es lassen sich also, wenn nicht Fehler gemacht werden sollen, weder Gewichts- noch Flächentheile frischer Schleimhäute von hungernden und verdauenden Thieren vergleichen.

Die wesentlichste Fehlerquelle, der verschiedene Feuchtigkeitsgehalt der zu vergleichenden Schleim-

---

1) Es wäre zu erwarten gewesen, dass beide Säureextracte gleich wirksam gewesen wären. Das Extract aus der getrockneten Schleimhaut ist wohl wirksamer, weil der fein gepulverten Magenschleimhaut in derselben Zeit überhaupt mehr Ferment entzogen werden konnte, als der frisch zerschnittenen.

häute, wird bei der Vergleichung der aus trockenen Schleimhäuten gewonnenen Extracte vermieden.

Bei der Präparation der Magenschleimhaut verfahre ich nach der von Ebstein und Grützner[1]) angegebenen Methode.

Der in der Linie der kleinen Curvatur aufgeschnittene Magen wird, mit der Schleimhautseite gegen die Hohlhand gerichtet, über die gespreizten Finger gespannt. Die Muscularis wird durch Scheerenschnitte entfernt, dann die Schleimhaut mit der Aussenseite auf Filtrirpapier gelegt, manchmal auch auf eine Korkplatte aufgespannt und in der Nähe des Ofens oder einer Flamme bei 30—40° C. getrocknet. Der Process der vollständigen Trocknung nimmt wenige Stunden in Anspruch. Nach Entfernung des anhaftenden Filtrirpapiers wird die fein zerschnittene Schleimhaut in gut verkorkten Gläsern aufbewahrt. Bei Bedarf eines Extractes wird die zerschnittene Schleimhaut auf ein Sieb gebracht und unter Zerreiben durchgesiebt. Von dem nunmehr fast staubfeinen Pulver werden Extracte gemacht.

Schon die verschiedensten Flüssigkeiten wurden zur Extraction verwendet. Salzsäurelösungen, Kochsalzlösungen, Thymolwasser, Glycerin, sogar Sodalösungen wurden angewandt. Schumburg[2]) prüfte, wie es früher schon Baginsky[3]) gethan, diese Methoden und ordnete die gewonnenen Extracte nach ihrer Wirksamkeit in absteigender Reihenfolge so an, wie es oben geschehen ist. Maly[4]) hält die wässrige Lösung eines durch Ausfällung mit Alkohol aus einem Glycerinextract gewonnenen Niederschlags für die empfehlenswertheste Form einer Lablösung. Hammarsten[5]) benutzte seiner Zeit allerdings diese Form der Extraction. Trotzdem die so gewonnene Lablösung noch in ungeheurer Verdünnung wirksam ist, geht bei ihr doch, wie schon a priori klar ist und der Versuch bestätigt, von dem im Labglycerinextract enthaltenen Ferment verloren.

---

1) P. Grützner, Ueber Bildung und Ausscheidung des Pepsins S. 37. Breslau 1875.

2) W. Schumburg, Ueber das Vorkommen des Labferments im Magen des Menschen. Virchow's Archiv Bd. 97 S. 263.

3) Baginsky in Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chemie Bd. 7 S. 209.

4) Maly, Chemie der Verdauungssäfte in Hermann's Handbuch d. Phys. II. Teil S. 51.

5) Hammarsten, Zur Kenntniss des Caseïns und der Wirkung des Labferments S. 50, 54 und 63. Upsala 1877.

Es erscheint mir vortheilhaft, sich eine Stammlösung von Lab herzustellen, die sich nicht leicht zersetzt und sowohl Enzym als Zymogen enthält. Sowohl die wässrige Lösung als die Säurelösung besitzen die erstere Eigenschaft nicht. In beiden entstehen nach kurzer Zeit, besonders in der heissen Jahreszeit, Pilzbildungen, in der letzteren endlich wird alles Zymogen in Enzym umgeformt. Die von mir stets benutzten Glycerinextracte sind sehr haltbar, erhalten Zymogen und Enzym in unveränderter Form und sind in ihrer Wirkung recht constant. Da das Prolab in das Glycerin übergeht, kann jeder Zeit durch Zusammenbringen von Labglycerinextract und 0,1 % HCl eine sehr kräftig wirksame Lablösung erhalten werden.

Folgender Versuch diene zur Bestätigung des Gesagten:

Versuch 2.

1) Von einem Labglycerinextracte (1 g Schleimhautpulver [Kalb] auf 100 ccm Glycerin) wird 0,1 ccm zu 10 ccm Milch gebracht. Die Gerinnung wird bei einer Temperatur des Wasserbads von 35° untersucht.

Die Gerinnung erfolgt nach 1 Stunde 2 Minuten.

2) Eine wässrige Lablösung wird nach Hammarsten's Vorschrift folgendermaassen aus dem eben erwähnten Glycerinextracte gewonnen. Es werden 2 ccm Labglycerinextract mit 20 ccm Alkohol gefällt und der Niederschlag in 10 ccm H_2O gelöst. Von dieser wässrigen Lösung werden bei einer Temperatur von 35° im Wasserbad 0,5 ccm zu 10 ccm Milch gesetzt. Gerinnung nach 3 Stunden 2 Minuten.

3) Ein Säureextract wird dargestellt, indem 1 ccm des Glycerinextracts mit 1 ccm HCl 0,1 % für ½ Stunde zusammengebracht werden. Darauf Zusatz von 2 ccm H_2O. Von diesem Säureextract wird 0,1 ccm zu 10 ccm Milch bei einer Temperatur des Wasserbads von 35° gebracht.

Die Gerinnung erfolgt nach 8 Minuten.

Es befinden sich nun in Lab enthalten in

				Gerinnung nach
Nr. 1)	Labglycerinextract:	0,001 g	Schleimhautpulver	1 Stunde 2 Min.
Nr. 2)	alkohol. Lösung:	0,001 g	„	3 Stunden 2 Min.
Nr. 3)	Säureextract:	0,00025 g	„	8 Min.

Es lässt sich nun gegen die Verwendung des nicht neutralisirten Säureextractes einwenden, dass die in 0,1 ccm desselben enthaltene Menge von 0,025 ccm 0,1 % HCl die Gerinnung beschleunigt habe. Allein ich habe darüber Versuche angestellt und gefunden, dass eine solch' geringe Menge Säure nur eine unbedeutende, ernstlich nicht in Betracht kommende Eigenwirkung entfaltet, die sich zur Lab-

wirkung addirt. Ich sah auch späterhin, wenn nicht ein besonderer Werth auf die neutrale Reaction gelegt wurde, von der Neutralisation schwachsaurer Lablösungen häufig ab. Auch sie hat ihre Nachtheile.

Es ist bei der ungemein schädigenden Wirkung, welche Alkalien auf das Labferment ausüben (vgl. hierüber S. 29), die Neutralisation, auch wenn sie sehr vorsichtig gemacht wird, eine nicht ungefährliche Operation.

Der Versuch ergibt also in schlagender Weise die unverhältnissmässig grössere Wirksamkeit des Säureextracts.

Was also die Wahl der Extractionsmethode betrifft, so ist da, wo es sich darum handelt, eine sehr wirksame, nicht aufzubewahrende Lablösung zu erhalten, das Säureextract am Platze; wünscht man ein haltbares, die Untersuchung auf Zymogen und Enzym gestattendes Extract zu bekommen, empfiehlt sich das Glycerinextract.

3) Wirkung einiger Laugen und Salze auf die Labgerinnung.

a) Literatur.

Bei der Anführung der Literatur sehe ich davon ab, diejenigen Arbeiten genauer zu citiren, die über das Verhältniss der Salze zum Caseïn, ganz abgesehen von der Labgerinnung, handeln. Es ist zwar zur Erklärung der Salzwirkung auf die Labgerinnung von grösster Wichtigkeit, die Beziehungen der Salze zum Caseïn zu kennen, allein da ich hierüber nicht gearbeitet habe, begnüge ich mich damit, anzuführen, dass sich das Wesentlichste hierüber bei Hammarsten[1]), Söldner[2]), Courant[3]), Arthus[4]) und Röhmann[5]) findet.

Ausführliche Angaben über die Salzwirkung auf die Labgerinnung finden wir bei Hammarsten[1]). Er stellt zunächst die Be-

1) Hammarsten, Vgl. S. 6 dieser Arbeit. Zur Kenntniss u. s. w. S. 7, 11, 20.

2) Söldner, Inauguraldissertation „Die Salze der Milch und ihre Beziehungen zum Caseïn.“ 1888.

3) Courant, Pflüger's Archiv Bd. 50 S. 109. 1891.

4) M. Arthus, Substances albuminoides du lait. Paris. Arch. de phys. no. 4 pag. 673. Octobre 1893.

5) Röhmann, Ueber einige salzartige Verbindungen des Caseïns und ihre Verwendung. Berlin. Klin. Wochenschrift 1895 Nr. 24.

dingungen fest, die es dem durch das Lab chemisch umgewandelten Caseïn möglich machen, ausgefällt zu werden. Er sagt: Für die Gerinnung ist die Anwesenheit von einer genügenden Menge Calciumphosphat nothwendiges Bedingniss. Die Phosphorsäure kann durch andere Säuren, wie Schwefelsäure und Kohlensäure, der Kalk durch andere alkalische Erden, wie diejenigen von Baryum, Strontium, Magnesium, ersetzt werden. Genauere Versuche, die später theilweise besprochen werden sollen, wurden über den Einfluss von Calcium-, Natrium- und Kaliumchlorid auf die Labgerinnung angestellt. Von dem phosphorsauren Natron[1]) wurde ein die Labgerinnung verlangsamender oder sie ganz aufhebender Einfluss festgestellt.

Boas[2]) benutzte die gerinnungsbeschleunigende Wirkung von Chlorcalcium, um Spuren von Lab nachzuweisen. Er gibt (S. 256) folgende Gerinnungstheorie: Caseïn und Erdphosphate befinden sich in einem bestimmten Verhältniss zu einander, das bei Anwesenheit von Labferment gelockert wird. Dies geschieht um so schneller, sobald durch weiteren Zusatz von Kalksalzen das molekulare Gleichgewicht zwischen Caseïn und Erdphosphaten aufgehoben wird. Er gibt ferner an: Mundspeichel, neutrales Olivenöl und Fette wirken auf die Gerinnung nicht hemmend, Galle hemmt und zwar bei Zusatz von 1% choleïnsaurem Natron erheblich. Ein Zusatz von 2% hebt die Labwirkung auf.

In der neueren Literatur sind besonders die Beobachtungen von Arthus und Pagès[3]) bemerkenswerth. Sie unterscheiden mit Hammarsten[4]) bei der Labgerinnung zwei Vorgänge, die chemische Umformung des Caseïns und das Ausfällen des chemisch veränderten Caseïns mit Salzen. Dem entsprechend sondern sie auch die Salze und andere Agentien in zwei Gruppen, die eine beeinflusst die chemische Umwandlung des Caseïns durch das Lab, die andere beeinflusst die Ausfällung des veränderten Caseïns. Gewisse Salze müssen endlich beiden Gruppen beigezählt werden.

---

1) Hammarsten, Upsala bekareförenings förhandl. Bd. 8 S. 63—86. 1872. Benutzt Referat in Hofmann-Schwalbe, Jahresb. f. Anat. u. Phys. Bd. 2 S. 392. 1875.

2) Boas, Labferment und Labzymogen im gesunden und kranken Magen. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 14 S. 256. 1888.

3) Arthus et Pagès, Action du lab et coagulation du lait. Arch. de Phys. 5e série T. 2 pag. 333, pag. 336—339. 1890.

4) Vgl. diese Arbeit S. 6 Zur Kenntniss u. s. w. S. 61.

Ueber die erste Gruppe sagt er folgendes: Die kaustischen Alkalien, die Alkalicarbonate zerstören das Lab, hindern oder unterdrücken deshalb, je nach der Menge, in der sie vorhanden sind, die Labwirkung. Die Alkalibicarbonate dagegen scheinen diesen verzögernden Einfluss nicht auszuüben. Er nimmt an, dass die Erdalkalisalze nicht bloss die Ausfällung beschleunigen, sondern auch auf die chemische Umformung des Caseïns einen stark beschleunigenden Einfluss ausüben, also beiden Gruppen beizuzählen sind.

Zur zweiten Gruppe gehören die Kalksalze, die durch Magnesium und Baryumsalze ersetzt werden können. Nicht ebenso wirken die Alkalisalze, deren Einfluss auf die Labgerinnung wenig wichtig ist. Werden der Milch die Kalksalze durch oxalsaures Natron oder Fluornatrium entzogen, so tritt keine Gerinnung, wohl aber eine chemische Umsetzung des Caseïns ein.

Ringer[1]) constatirt bei der Labgerinnung einen Antagonismus zwischen $CaCl_2$ auf der einen, NaCl, KCl, NH_4Cl auf der andern Seite. Verdünnte Milch, der Lab zugesetzt ist, kann, wenn ihr vorher NaCl, KCl, NH_4Cl zugefügt wurde und sie einige Zeit gestanden hat, durch $CaCl_2$ nicht oder fast nicht zur Gerinnung gebracht werden, während dies bei der nur mit Wasser versetzten Milch gelingt. Die gerinnungshemmende Wirkung dieser Salze beruht aber nicht darauf, dass diese Salze die chemische Umwandlung des Caseïns (change from caseinogen to caseïn) hintanhalten, sondern darauf, dass sie der Ausfällung des veränderten Caseïns mit Kalksalzen entgegenwirken.

Edmunds[2]) endlich, dem es gelang, milchgerinnendes Ferment aus fast allen Organen darzustellen, fand die eigenthümliche Thatsache, dass $CaCl_2$ das eine Mal, nämlich beim Hoden- und Muskelextract, die Wirkung des Ferments unterstützte, sonst bei allen übrigen Extracten die Fermentwirkung hintanhielt.

---

1) Ringer, Antagonism of salts. Journ. of Phys. by Foster and Langley Vol. 18 pag. 425. 1895.

2) Arthur Edmunds, Notes on rennet on the coagulation of milk. Journ. of Phys. by Foster and Langley Vol. 19 pag. 466. 1896. Von demselben und anderen Forschern (Gley, Compt. rend. de la société de biologie S. 591, 1896, und ganz neuerdings Locke, Journal of experiment. medicine Vol. 2 pag. 493, 1897) liegen auch Untersuchungen vor über den Einfluss der Peptone auf die Labgerinnung, worüber ich aber keine eignen Erfahrungen besitze. Ich begnüge mich desshalb mit diesem Hinweis.

b) Leitende Gesichtspunkte.

Von Interesse erschienen mir die gleich zu besprechenden Versuche unter folgenden Gesichtspunkten:

Indem diese Versuche zeigen sollen, wie einige Laugen und Salze auf ein für die Magenverdauung besonders Magenkranker ohne Zweifel wichtiges Ferment, das Lab, einwirken, sollen sie einen kleinen Beitrag liefern zur Lösung der Frage, wie Salze überhaupt auf die Fermente wirken.

Dann ist es für sämmtliche Untersuchungen von Fermenten, besonders aber da, wo es auf Trennung von Zymogen und Enzym ankommt, gut, die Wirkung der Salze zu kennen, die entweder bei der Extraction verwendet werden, oder bei der Neutralisation des künstlich durch Säure umgeformten Ferments entstehen, um klare Resultate zu haben.

Endlich sind solche Versuche, je mehr ihrer werden, geeignet, die Eigenschaften und das Wesen der Fermente schärfer heraustreten zu lassen.

c) Methode.

Während bislang bei allen Versuchen, soweit sie über die Wirkung chemischer Agentien auf die Labgerinnung angestellt wurden, procentuale Lösungen verglichen wurden, stellte ich sie auf Anregung von Herrn Prof. Grützner mit äquimolekularen Lösungen an. Nur auf diese Weise ist es möglich, sich nicht nur überhaupt ein Bild von der chemischen Wirksamkeit gewisser Stoffe zu machen, sondern auch die Wirksamkeit dieser Stoffe unter einander zu vergleichen.

Pfleiderer[1]) hat unlängst im hiesigen Institute die Wirkung äquivalenter Säuremengen auf die Labgerinnung untersucht. Meine Versuche mögen sich an jene anreihen.

Bei der Ausführung der Versuche hatte ich mich zunächst darüber zu entscheiden, in welcher Form die zu untersuchenden Stoffe der Milch beigefügt werden sollen, ob in Substanz, ob in Lösung. Von letzterem sah ich zunächst ab. Wie Hammarsten schon gezeigt hat und ich selbst in vielen Versuchsreihen gesehen habe, wirkt schon Wasserzusatz von $^1/_{10}$—$^1/_5$ Volumen merklich hemmend

1) R. Pfleiderer, Dieses Archiv Bd. 66 S. 27. 1897.

auf die Gerinnung. Auch wünschte ich die Wirkung der Salze auf die Labgerinnung der natürlichen Milch, nicht einer milchigen Versuchsflüssigkeit kennen zu lernen. Die Salze fügte ich der Milch so zu, dass dieselbe (abgesehen von ihrem eigenen Salzgehalt) einer Normalsalzlösung oder den Bruchtheilen einer Normalsalzlösung entsprach.

Dasselbe that Hammarsten[1]) bei einem Theil seiner Versuche, die er allerdings nicht mit äquimolekularen, sondern mit äquiprocentualen Salzmilchlösungen anstellte.

Die zu untersuchenden Stoffe wurden, nachdem ihnen etwaiges Krystallwasser möglichst vollständig entzogen war, in einer bestimmten Menge zur Milch gesetzt, so dass die Mischung einer Lösung von $^1/_1$ n, $^1/_{10}$ n, $^1/_{50}$ n entsprach. Mit einer dieser Lösungen wurden nach Wunsch weitere Verdünnungen mit Milch vorgenommen. Nur Milch in solchen Salzconcentrationen wurde zur Herstellung weiterer Verdünnungen verwendet, die durch den Salzzusatz keine gröbere, mit dem Auge wahrnehmbare Veränderung oder Zersetzung erlitten hatte.

Mit wenigen Ausnahmen wurden zwei oder mehrere Stoffe neben einander mit ein und derselben Milch untersucht und jedes Mal ein Probeversuch ohne Salzzusatz angestellt. Nach Abschluss eines Versuchs wurden die Gerinnungszeiten der mit Salz versetzten Milch mit der Gerinnungszeit der salzfreien Milch verglichen. Wenn nun der Salzzusatz eine Beschleunigung der Labgerinnung erzeugt hatte, wurde der Zahl von Minuten, welche der Beschleunigung entsprach, ein +-Zeichen vorgesetzt. Umgekehrt wurde die der Hemmungszeit entsprechende Zahl von Minuten mit einem —Zeichen versehen. Wenn also beispielsweise in diesen Versuchen davon die Rede ist, dass $^1/_{50}$ n $BaCl_2$ einen Einfluss auf die Labgerinnung von $+5^1/_2$, $^1/_{50}$ n $MgSO_4$ von $-3^1/_2$ ausübe, so heisst dies: $BaCl_2$ in einer Menge von Substanz zur Milch gesetzt, die einer $^1/_{50}$ n-Lösung entspricht, beschleunigt die Labgerinnung der mit Salz versetzten Milch im Vergleich zur natürlichen um $5^1/_2$ Minuten, $MgSO_4$ hemmt sie in derselben Concentration um $3^1/_2$ Minuten.

Als Lablösung wurde das aus der Magenschleimhaut des Kalbes gewonnene, nicht neutralisirte Glycerin-Säureextract verwendet, dessen

---

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 69.

Herstellung S. 7 (Vers. 2, 3) beschrieben ist. Es wurde von demselben immer 0,1 ccm zu 10 ccm Milch gebracht. Die Wirkung dieses Extracts war eine gleichmässige. Die Gerinnung der Probemilch erfolgte mit seltenen Ausnahmen innerhalb 8—10 Minuten. Die Temperatur der zur Verwendung kommenden Milch wurde im Wasserbade während der Dauer des Versuchs gleichmässig auf 35° gehalten.

Was das Ergebniss der gleich zu besprechenden Versuche anlangt, so ist vorauszuschicken, dass sich bei Wiederholung der Versuchsreihen — es wurden meist mehrere vorgenommen — zwar analoge Reihen ergaben, dass aber die Hintanhaltung oder Beschleunigung der Milchgerinnung bei einem bestimmten Salzzusatz sich in der einen Versuchsreihe zwar im Wesentlichen, jedoch nicht immer ganz gleich verhielt wie in der andern. Es war dies im voraus zu erwarten, da eben die Milch keine einfache chemische Flüssigkeit von constanter Zusammensetzung ist.

Zu erwähnen wäre noch, dass fast alle Versuche über den Einfluss der Salze auf die Labgerinnung im Wintersemester 1896 bis 1897 angestellt und im Sommersemester 1897 theilweise wiederholt und controlirt wurden.

I) Gruppe der Alkalimetalle.

Am meisten hemmen unter den Verbindungen der Alkalimetalle die Alkalien. Der Beginn der Gerinnung konnte nur bis zu $^1/_{500}$ n-Verdünnung genau festgestellt werden. Bei $^1/_{100}$ n trat noch Bildung einzelner Flocken, keine typische feste Gerinnung ein. Stärkere Concentrationen machten die Gerinnung unmöglich und zersetzten die Milch.

Versuch 3.

NaOH (Moleculargewicht 40) KOH (56).

Probeversuch: Gerinnung nach $8^1/_2$ Minuten.

Alkalimilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung (in Minuten) von	
normal	in Procenten	a) NaOH	b) KOH
$^1/_{1000}$ n	NaOH 0,004 % KOH 0,006 %	— $3^1/_2$	— 7
$^1/_{500}$ n	a) 0,008 % b) 0,012 %	— $5^1/_2$	— $10^1/_2$
$^1/_{100}$ n	a) 0,04 % b) 0,06 %	Unvollkommene flockige Gerinnung nach mehreren Stunden	

Viel weniger stark, aber doch noch recht beträchtlich hemmen die Carbonate der Alkalimetalle, und zwar stärker die Carbonate als die Bicarbonate. Noch bei einer Concentration von $^1/_{1000}$ n macht sich eine deutlich hervortretende Hemmung geltend. Von $^1/_{100}$ n ab wird auch bei den Alkalicarbonaten der Gerinnungsanfang undeutlich.

Versuch 4.

Na_2CO_3 (106) K_2CO_3 (138).

Probeversuch: Gerinnung nach 14 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) Na_2CO_3	b) K_2CO_3
$^1/_{1000}$ n	Na_2CO_3 0,011 % K_2CO_3 0,014 %	— 3	0
$^1/_{500}$ n	a) 0,02 % b) 0,03 %	— 6	— 5
$^1/_{250}$ n	a) 0,04 % b) 0,05 %	— 12	— 18
$^1/_{100}$ n	a) 0,11 % b) 0,14 %	Nach mehreren Stunden keine deutliche Gerinnung.	

Versuch 5.

$NaHCO_3$ (84) ausnahmsweise für sich allein untersucht.

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung
normal	in Procenten	
$^1/_{1000}$ n	0,008 %	— $^1/_2$
$^1/_{500}$ n	0,017 %	— 1
$^1/_{100}$ n	0,08 %	— 10
$^1/_{50}$ n	0,17 %	— 24
$^1/_{10}$ n	0,84 %	Nach 10 Stdn. keine Gerinnung
$^1/_2$ n	4,2 %	Keine Gerinnung. Zersetzt

Wieder etwas weniger hemmend wirken die Sulfate der Alkalimetalle.

Versuch 6.

Na_2SO_4 (142) K_2SO_4 (174).

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) Na_2SO_4	b) K_2SO_4
$^1/_{1000}$ n	Na_2SO_4 0,014 % K_2SO_4 0,02 %	— 2	— $1^1/_2$
$^1/_{100}$ n	a) 0,14 % b) 0,17 %	— 3	— 3
$^1/_{50}$ n	a) 0,28 % b) 0,35 %	— $3^1/_2$	— $3^1/_2$
$^1/_{10}$ n	a) 1,42 % b) 1,74 %	— 9	— 11
$^1/_2$ n	a) 7,1 % b) 8,7 %	ca. — 40	ca. — 60 nicht fest

Die Nitrate stehen den Sulfaten der Alkalimetalle nur in den schwächeren Concentrationen an hemmender Wirkung wesentlich nach. In starken Concentrationen hemmen sie mindestens ebenso stark.

Versuch 7.

$NaNO_3$ (85) KNO_3 (101).

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) $NaNO_3$	b) KNO_3
$^1/_{100}$ n	$NaNO_3$ 0,085 % KNO_3 0,101 %	— 1	— $^1/_2$
$^1/_{50}$ n	a) 0,17 % b) 0,20 %	— $1^1/_2$	— $1^1/_2$
$^1/_{10}$ n	a) 0,85 % b) 1,01 %	— 8	— $7^1/_2$
$^1/_2$ n	a) 4,25 % b) 5,05 %	— ca. 2 Stunden	— ca. $1^3/_4$ Stunden

Was die Phosphate der Alkalimetalle anlangt, so unterzog ich nur das gegen Lackmus schwach alkalisch reagirende Dinatriumphosphat (Natrium phosphoricum) und das saure Dikalium-

phosphat einer Untersuchung. Dieselbe ergab, dass K_2HPO_4 die Gerinnung beschleunigt, während Na_2HPO_4 einen stark hemmenden Einfluss ausübt, ja sogar die Gerinnung schon bei einem Salzzusatz, der einer $^1/_{10}$ n-Lösung entspricht, ganz aufhebt; ein Ergebniss, das wohl im Wesentlichen durch die verschiedene Reaction der beiden Salze erklärt wird.

Versuch 8.

Na_2HPO_4 (142) K_2HPO_4 (174).

Probeversuch: Gerinnung nach 9 Minuten.

Milchsalzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) Na_2HPO_4	b) K_2HPO_4
$^1/_{1000}$ n	Na_2HPO_4 0,014 % K_2HPO_4 0;017 %	— $1^1/_2$	+ 1
$^1/_{500}$ n	a) 0,028 % b) 0,034 %	— 3	+ $3^1/_2$
$^1/_{100}$ n	a) 0,14 % b) 0,17 %	— 18	+ $4^1/_2$
$^1/_{10}$ n	a) 1,42 % b) 1,74 %	Keine Gerinnung beobachtet	+ $5^1/_2$

Von den Haloiden der Alkalimetalle kam NaJ, KJ, NaBr, KBr, NaCl, KCl, LiCl zur Untersuchung. Alle hemmen, mit Ausnahme des LiCl, durchweg die Labgerinnung. Die Gruppe der Jodide übertrifft die der Bromide und Chloride an schädigender Wirksamkeit.

Versuch 9.

NaJ (150) KJ (166).

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) NaJ	b) KJ
$^1/_{100}$ n	NaJ 0,15 % KJ 0,17 %	— 2	— $1^1/_2$
$^1/_{50}$ n	a) 0,3 % b) 0,33 %	— 3	— 3
$^1/_{25}$ n	a) 0,6 % b) 0,66 %	— 4	— $4^1/_2$
$^1/_{10}$ n	a) 1,5 % b) 1,66 %	— 10	— $8^1/_2$
$^1/_2$ n	a) 7,5 % b) 8,3 %	Keine typische Gerinnung	— ca. 3 Stdn. 40Min.

Versuch 10.

NaBr (103) KBr (119).

Probeversuch: Gerinnung nach $8^1/_2$ Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) NaBr	b) KBr
$^1/_{100}$ n	NaBr 0,103 % KBr 0,12 %	— $^1/_4$	— $1^1/_2$
$^1/_{50}$ n	a) 0,21 % b) 0,24 %	— 1	— $4^1/_2$
$^1/_{25}$ n	a) 0,41 % b) 0,48 %	— 2	— 6
$^1/_{10}$ n	a) 1,03 % b) 1,19 %	— 6	— 38
$^1/_2$ n	a) 5,15 % b) 5,95 %	— 42	— 1 Stunde 36 Min.

Versuch 11.

NaCl (58,5) KCl (74,5).

Probeversuch: Gerinnung nach $8^1/_2$ Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) NaCl	b) KCl
$^1/_{100}$ n	NaCl 0,06 % KCl 0,074 %	— 2	— $^1/_2$
$^1/_{50}$ n	a) 0,12 % b) 0,15 %	— 2	— $^1/_2$
$^1/_{10}$ n	a) 0,58 % b) 0,74 %	— 3	— $3^1/_2$
$^1/_2$ n	a) 2,92 % b) 3,72 %	— $14^1/_2$	— 20
n	a) 5,85 % b) 7,45 %	— 27	— 32

Das Lithiumchlorid macht von allen von mir untersuchten Neutralsalzen der Alkalimetalle insofern eine Ausnahme, als es, in sehr schwachen Concentrationen zur Milch gesetzt, die Labgerinnung sehr unbedeutend beschleunigt, ein Verhalten, das insofern nicht sehr befremden kann, als die Salze des Lithium auch sonst in ihren

Eigenschaften denen des Magnesium ähnlich sind. Die Gruppe der Magnesiumsalze aber übt eine im wesentlichen gerinnungsbeschleunigende Wirkung auf die Labgerinnung aus.

Versuch 12.

LiCl (42,5).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Milchsalzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung
normal	in Procenten	
$^1/_{1000}$ n	0,004 %	+ $^1/_2$
$^1/_{500}$ n	0,0085 %	+ $^1/_2$
$^1/_{100}$ n	0,04 %	+ $^1/_4$
$^1/_{50}$ n	0,085 %	+ $^1/_4$
$^1/_{10}$ n	0,42 %	— 1
$^1/_2$ n	2,12 %	ca. — 32

Endlich wurde noch mit dem dieser Gruppe angehörigen Fluornatrium und dem oxalsauren Kali ein Versuch angestellt. Derselbe ergab für beide Salze eine die Labgerinnung bei schwachem Salzzusatz stark hemmende, bei höheren Concentrationen eine die Gerinnung fast ganz oder ganz aufhebende Wirkung.

Versuch 13.

NaFl (42) $K_2C_2O_4$ (166).

Probeversuch: Gerinnung nach 10 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) NaFl	b) $K_2C_2O_4$
$^1/_{1000}$ n	NaFl 0,004 % $K_2C_2O_4$ 0,002 %	0	— 14
$^1/_{500}$ n	a) 0,008 % b) 0,034 %	nicht beobachtet	— 73
$^1/_{100}$ n	a) 0,04 % b) 0,17 %	— 17	— 8 Stunden 35 Min.
$^1/_{10}$ n	a) 0,42 % b) 1,66 %	Innerhalb 20 Stunden keine Gerinnung beobachtet.	

Wenn wir die bisher gewonnenen Resultate zusammenfassen, so ergibt sich aus obigen und aus vielen andern Versuchen über die Wirksamkeit der Salze der Alkalimetalle Folgendes:

Während die Alkalien und gleich nach ihnen Fluornatrium und oxalsaures Kali am stärksten hemmen, ist der hemmende Einfluss der Carbonate etwas schwächer, noch schwächer der der Bicarbonate. Die Sulfate und Nitrate stehen wieder hinter den Carbonaten an Schädlichkeit zurück, indem sie die Labgerinnung auch bei ziemlich concentrirten Salzmilchlösungen nicht ausschliessen. Beachtenswerth ist, dass von den Neutralsalzen die Sulfate es sind, die auch in schwachen Concentrationen stark hemmend auf die Labgerinnung wirken. Aehnliches konnte Grützner[1]) für die Wirkung der Sulfate auf die Pepsinverdauung nachweisen. Was die Phosphate betrifft, so kamen von ihnen nur zwei zur Untersuchung: Na_2HPO_4 hemmt die Gerinnung sehr stark, K_2HPO_4 beschleunigt sie. Den vorher erwähnten Gruppen von Salzen mit Ausnahme des K_2HPO_4 stehen in Bezug auf die Behinderung der Labgerinnung nahe die Haloidsalze, von denen die Jodide und Bromide an Schädlichkeit die Chloride noch beträchtlich übertreffen.

Das Lithiumchlorid, das doch nicht so ganz zur Gruppe der Alkalimetalle gehört, beschleunigt in gewissen Concentrationen die Labgerinnung in sehr unbedeutender, aber doch noch deutlich zu beobachtender Weise.

Wenn wir Natrium- und Kaliumsalze im ganzen vergleichen, so finden wir, dass sie in äquimolekularen Mengen in ihrer Wirkungsweise wenig differiren. In höheren Concentrationen wirken die Kaliumsalze im Durchschnitt wohl etwas intensiver schädigend als die Natriumsalze.

II) Gruppe der Erdalkalimetalle.

Im Gegensatz zu den meisten Salzen der Alkalimetalle wirken die der Erdalkalimetalle im Wesentlichen gerinnungsbeschleunigend auf die Labgerinnung. Dass die Erdalkalien $Ca(OH)_2$ und $Ba(OH)_2$ gerinnungshemmend wirken, ist bei ihrer Natur als Laugen, die das Ferment mehr oder weniger zerstören, im voraus zu erwarten.

---

1) R. Pfleiderer, Ein Beitrag zur Pepsin- und Labwirkung. Dieses Archiv Bd. 66 S. 625. 1897.

Versuch 14.

$Ca(OH)_2$ (74) $Ba(OH)_2$ (171).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Laugemilchlösung		Einfluss auf die Labegerinnung von	
normal	in Procenten	a) $Ca(OH)_2$	b) $Ba(OH)_2$
$^1/_{1000}$ n	$Ca(OH)_2$ 0,007 % $Ba(OH)_2$ 0,017 %	— $1^1/_2$	— 2
$^1/_{500}$ n	a) 0,015 % b) 0,034 %	— 4	— 4
$^1/_{100}$ n	a) 0,07 % b) 0,17 %	— 30	— 16
$^1/_{50}$ n	a) 0,15 % b) 0,34 %	Gerinnungsanfang undeutlich	

Es wirken also sowohl Calcium- als Baryumlauge auf die Labgerinnung stark hemmend. Auch Strontiumhydroxyd wurde untersucht. Es steht gegenüber den zwei erstgenannten Stoffen an hemmender Wirkung beträchtlich zurück. Die hemmende Wirkung tritt erst bei $^1/_{50}$ n auf.

Von den Nitraten der Erdalkalimetalle kam nur Baryumnitrat zur Untersuchung. Dasselbe beschleunigt die Gerinnung in fast allen von mir untersuchten Concentrationen. In sehr starker Verdünnung ist keine Beeinflussung der Labgerinnung mehr festzustellen.

Versuch 15.

$Ba(NO_3)_2$ (261).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von $Ba(NO_3)_2$
normal	in Procenten	
$^1/_{500}$ n	0,05 %	0
$^1/_{100}$ n	0,26 %	+ 2
$^1/_{50}$ n	0,52 %	+ 3
$^1/_{10}$ n	2,61 %	+ $3^1/_2$
$^1/_5$ n	5,22 %	+ $^1/_2$

Beachtenswerth ist das Ergebniss, das die Untersuchung der Chloride der Erdalkalimetalle ergab.

Trotzdem die Gewichtsmengen der zur Milch gesetzten Salze wegen der Verschiedenheit des Atomgewichts der zu untersuchenden Stoffe beträchtlich differiren, entfalten doch äquimolekulare Mengen eine recht gleichmässige Wirkung.

Ferner springt die schon von Hammarsten beobachtete Thatsache in die Augen, dass ein und dasselbe Salz je nach der Menge, in der es zur Milch gebracht wird, einen fördernden oder hemmenden Einfluss auf die Labgerinnung auszuüben vermag.

Versuch 16.

$CaCl_2$ (111) $SrCl_2$ (159) $BaCl_2$ (208).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Milchsalzlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von		
normal	in Procenten	a) $CaCl_2$	b) $SrCl_2$	c) $BaCl_2$
$^1/_{1000}$ n	$CaCl_2$ 0,011 % $SrCl_2$ 0,016 % $BaCl_2$ 0,021 %	+ 2	+ 1	+ $1^1/_2$
$^1/_{500}$ n	a) 0,022 % b) 0,032 % c) 0,042 %	+ $2^1/_2$	+ 2	+ 2
$^1/_{100}$ n	a) 0,11 % b) 0,16 % c) 0,21 %	+ $5^1/_2$	+ $4^1/_2$	+ 5
$^1/_{50}$ n	a) 0,22 % b) 0,32 % c) 0,42 %	+ $6^1/_2$	+ 5	+ 6
$^1/_{10}$ n	a) 1,11 % b) 1,59 % c) 2,08 %	+ 5	+ $3^1/_2$	+ $6^1/_2$
$^1/_2$ n	a) 5,55 % b) 7,95 % c) 10,4 %	— 20	— 4	— $3^1/_2$

III) Salze der Magnesiumgruppe und Aluminiumchlorid.

Zur Untersuchung kamen Magnesium-, Zink- und Cadmiumchlorid, dann noch Magnesiumsulfat und das allerdings nicht in diese Gruppe gehörige Aluminiumchlorid.

Im grossen Ganzen steht die beschleunigende Wirkung, welche diese Salze auf die Labgerinnung besonders in mittleren Concentrationen ausüben, im Vordergrund.

Versuch 17.

$MgCl_2$ (95) $ZnCl_2$ (136).

Probeversuch: Gerinnung nach $9^1/_2$ Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) $MgCl_2$	b) $ZnCl_2$
$^1/_{1000}$ n	$MgCl_2$ 0,009 % $ZnCl_2$ 0,014 %	— 5	+ 2
$^1/_{500}$ n	a) 0,019 % b) 0,027 %	— 4	+ $2^1/_2$
$^1/_{100}$ n	a) 0,095 % b) 0,136 %	0	+ 3
$^1/_{50}$ n	a) 0,19 % b) 0,27 %	+ 6	+ 4
$^1/_{10}$ n	a) 0,95 % b) 1,36 %	+ 7	— 16
$^1/_2$ n	a) 4,75 % b) 6,8 %	Gerinnungsanfang undeutlich	

Besonders schön ist in Versuch 17 beim $MgCl_2$ zu sehen, wie ein Salz bei gewissen Concentrationen schädigt, dann bei Steigerung des Zusatzes bei einem gewissen Punkt indifferent wird, um dann bei fortgesetzter Steigerung des Zusatzes eine befördernde Wirksamkeit zu entfalten.

Da im folgenden Versuch die Milch in stärkeren Concentrationen als $^1/_{10}$ n sofort selbstständig ohne Labzusatz, zwar nicht fest, aber grobflockig gerinnt, wird von der Untersuchnng dieser höheren Concentrationen abgesehen.

Versuch 18.

$CdCl_2$ (183) $AlCl_3$ (133,9).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) $CdCl_2$	b) $AlCl_3$
$^1/_{10\,000}$ n	$CdCl_2$ 0,002 % $AlCl_3$ 0,0013 %	ca. + $^1/_4$	ca. + $^1/_2$
$^1/_{5000}$ n	a) 0,004 % b) 0,003 %	+ $^1/_2$	+ 1
$^1/_{1000}$ n	a) 0,02 % b) 0,013 %	+ 1	+ 2
$^1/_{500}$ n	a) 0,04 % b) 0,03 %	+ 3	+ 4
$^1/_{100}$ n	a) 0,18 % b) 0,13 %	+ 4	+ $5^1/_2$

Versuch 19.

$MgSO_4$ (120) $Ba(NO_3)_2$ (261).

Probeversuch: Gerinnung nach 8 Minuten.

Salzmilchlösung		Einfluss auf die Labgerinnung von	
normal	in Procenten	a) $MgSO_4$	b) $Ba(NO_3)_2$
$^1/_{1000}$ n	$MgSO_4$ 0,012 % $Ba(NO_3)_2$ 0,026 %	+ $^1/_2$	0
$^1/_{500}$ n	a) 0,024 % b) 0,05 %	+ 1	+ $^1/_2$
$^1/_{100}$ n	a) 0,12 % b) 0,26 %	+ 3	+ 2
$^1/_{10}$ n	a) 1,20 % b) 2,61 %	+ 1	+ $3^1/_2$
$^1/_2$ n	a) 6,0 % b) 13,05 %	— 52	nicht beobachtet

4) Einfluss des Kochsalzes auf die Labgerinnung bei Zusatz desselben in wässriger Lösung.

Hammarsten[1]) gibt an, dass Kochsalz, in Substanz zur Milch gesetzt, die Labgerinnung verlangsame, dagegen bei einer gewissen Verdünnung der Milch mit Wasser und Zusatz des Salzes in wässriger Lösung eine die Gerinnung befördernde Wirkung ausübe. Dasselbe sagt er vom Chlorkalium.

Auch ich machte mehrere Versuche, unter Zusatz gleicher Mengen verschieden wirksamer Labextracte.

Versuch 20—23.

Nr.	Gehalt der Versuchsflüssigkeit an NaCl	Milch ccm	5 n NaCl-lösung ccm	H_2O ccm	Gerinnungszeit in Minuten Vers. 20	Vers. 21	Vers. 22	Vers. 23
1	0 %	8	0	2	$7^1/_2$	$8^1/_2$	$23^1/_2$	30
2	5,8 %	8	2	0	30	$30^1/_2$	130	120
3	2,9 %	8	1	1	21	$20^1/_2$	85	90
4	1,16 %	8	0,4	1,6	15	$13^1/_2$	45	57
5	0,58 %	8	0,2	1,8	10	$10^1/_4$	31	52
6	0,29 %	8	0,1	1,9	$8^1/_2$	$9^1/_2$	$29^1/_2$	42
7	0,03 %	8	0,1 von $^1/_2$ n	1,9	8	$9^1/_2$	30	$42^1/_2$

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 71.

Alle diese Versuchsreihen ergaben ein und dasselbe Resultat, nämlich Kochsalz hemmt. Da ich mir nicht bewusst war, anders vorgegangen zu sein als Hammarsten, so war mir dies Ergebniss befremdlich.

Ich suchte mir nun diese hemmende Wirkung des Kochsalzes bei der Gerinnung von verdünnter Milch so zu erklären, dass ich annahm, die von Hammarsten benutzte Milch habe mehr Wasser enthalten als die von mir benutzte. Ich verdünnte desshalb 6 Theile Milch mit 4 Theilen Wasser, ohne den procentarischen Gehalt der Versuchsflüssigkeit an NaCl zu ändern.

Versuch 24.

Die Anordnung war dieselbe wie in Nr. 20—23, nur die Verdünnung 6 : 4.

Nr.	Gerinnung nach
1	10 Minuten
2	94 „
3	34 „
4	18 „
5	11½ „
6	10½ „
7	10 „

Da auch dieser Versuch kein Ergebniss im Sinne Hammarsten's ergab, nahm ich eine weitere Verdünnung vor. Erst bei dieser konnte ich, sowie Hammarsten, eine beschleunigende Wirkung des Kochsalzes beobachten, wie der folgende Versuch ausweist.

Versuch 25.

Je 5 ccm Milch werden mit je 5 ccm H_2O verdünnt. Gehalt der Versuchsflüssigkeit an NaCl wie in Versuch 20—23.

Nr.	Gerinnung nach
1	16 Minuten (flockige Gerinnung)
2	33 „ (feste Gerinnung)
3	25 „ (ebenso)
4	12 „ (ebenso)
5	9½ „ (ebenso)
6	8 „ (ebenso)
7	10 „ (flockige Gerinnung)

Auch ein Versuch mit einer H_2O-Verdünnung 6:4 bestätigte mir Hammarsten's Angabe, dass NaCl auf die Labgerinnung unter Umständen auch beschleunigend wirken kann.

Ich muss noch nachtragen, dass ich bei späterer Wiederholung dieser Versuche gefunden habe, dass diese beschleunigende Wirkung von NaCl nicht immer bei jeder Milch gezeigt werden kann. Ich habe bei ein und derselben Milch verschiedene Verdünnungen (8:2, 6:4, 5:5) angestellt und eine Beschleunigung durch Kochsalzzusatz nicht beobachten können.

Kochsalz ist also im Stande, bei sehr stark mit Wasser verdünnter Milch die Gerinnung zu beschleunigen, doch ist diese beschleunigende Wirkung nicht bei jeder Milch bei ein und derselben Wasserverdünnung nachzuweisen.

Was die Ursache dieser Unregelmässigkeit ist, kann ich nicht angeben. Für das Wahrscheinlichste halte ich, dass der jeweilig verschiedene Salzgehalt der Versuchsmilch die Ungleichheit bedingt.

Verschieden von der durch das Lab erzeugten Gerinnung unverdünnter Milch war auch die Art der Gerinnung. Während die Milch, der bemerkenswerthe Mengen von NaCl zugefügt worden waren, eine für die Labgerinnung typische Gerinnungsart zeigte, trat bei der nur oder fast nur mit Wasser verdünnten Milch eine grobflockige Gerinnung ein. (Vgl. Vers. 25.) Ob bei noch stärkerem Salzzusatz die Festigkeit der Gerinnsel wieder abnimmt (Hammarsten), habe ich nicht untersucht.

Ich habe diese Versuche deshalb so oft wiederholt, weil mir an der Bestätigung des Satzes Hammarsten's[1]) viel lag, „dass nämlich die Chloralkalien unter Umständen nothwendige Bedingungen für die Caseïngerinnung werden können. Wie durch Zusatz von $CaCl_2$ kann also die schädliche Wirkung von Verdünnung mit Wasser auch durch Zusatz von Chloralkalien aufgehoben werden."

Es ist nämlich diese schon im Jahre 1877 constatirte Thatsache nirgends in die Literatur übergegangen, vielmehr ist überall die Anschauung vertreten, dass Labgerinnung nur bei Gegenwart löslicher Kalksalze möglich sei.

Nach Abschluss meiner Versuche finde ich, dass Hammar-

---

1) Hammarsten, Zur Kenntniss u. s. w. S. 73.

sten[1]) in einer neuen Arbeit die Fähigkeit von Chloralkalien, die Rolle der löslichen Kalksalze zu vertreten, auf andere Weise bewiesen hat.

Nach der schon erwähnten Anschauung von Ringer (vgl. S. 10) könnte man die Thatsache, dass NaCl, zu gewöhnlicher Milch gesetzt, hemmend wirkt, durch die der Ausfällung des veränderten Caseïns mit Kalksalzen entgegenwirkende Thätigkeit des NaCl erklären. Werden nun der Milch die Kalksalze entzogen, oder verdünnter Milch so viel NaCl zugesetzt, dass die NaCl-Wirkung stärker wird als die Kalkwirkung, so fällt das umgeformte Caseïn mit NaCl aus.

5) Gruppirung der chemischen Agentien nach ihrer Beeinflussung der einzelnen bei der Labgerinnung betheiligten Factoren.

Bei der Betrachtung der Wirkungsweise chemischer Agentien auf die Labgerinnung ist die Thatsache, dass die einen die Labgerinnung fördern, die andern sie schädigen, die augenfälligste. Man ist deshalb versucht, die chemischen Agentien unter diesem Gesichtspunkte in Gruppen einzutheilen.

Allein schon eine oberflächliche Ueberlegung ergibt, dass diese Art der Betrachtung und Eintheilung werthlos wäre, da sie nur das Endergebniss der Wirkung gewisser Stoffe auf die Labgerinnung feststellen würde, dagegen über die Ursachen des Ergebnisses, die Wirkungsweise der einzelnen Stoffe, nichts aussagen würde. Ausserdem wäre es schwierig, Stoffe zu finden, welche die Fermentwirkung schlechthin unterstützen oder schädigen. Nur die Alkalien und diejenigen Salze, die eine ausgesprochen alkalische Reaction zeigen, üben einen durchweg schädigenden Einfluss auf die Labgerinnung aus und die Säuren, soweit bekannt, in schwachen Lösungen einen fördernden.

Man könnte nun versuchen, die chemischen Agentien in Gruppen einzutheilen, die nur an einem Acte der Labgerinnung betheiligt sind. Es ist das Verdienst von Hammarsten[2]), Arthus und Pagès[2]), gezeigt zu haben, dass bei der Labgerinnung zwei Vorgänge scharf zu trennen sind, die Umformung des Caseïns durch

1) Hammarsten, Ueber das Verhalten des Paracaseïns zu dem Labenzyme Zeitschr. f. physiol. Chemie S. 101. Strassburg 1896/97.

2) Vgl. Citat diese Arbeit S. 9.

das Lab und die ganz unabhängig vom Lab erfolgende Ausfällung des umgeformten Caseïns durch Kalksalze. Allein so werthvoll die Betrachtung der Beziehungen der einzelnen Stoffe zu diesen beiden Vorgängen sein mag, dürfte sich eine Eintheilung der die Labgerinnung beeinflussenden Agentien unter diesem Gesichtspunkte doch nicht empfehlen, da wir diese beiden Vorgänge bei der Labgerinnung noch nicht so gut kennen, um sie scharf getrennt betrachten zu können[1]).

Am lohnendsten dürfte es sein, zu untersuchen, wie die chemischen Agentien auf die einzelnen bei der Gerinnung betheiligten Factoren einwirken, und sie dementsprechend zu gruppiren.

Um die käsige Gerinnung möglich zu machen, müssen ausser dem Wasser 3 Factoren unumgänglich gegeben sein: das Labferment, das Caseïn und lösliche Salze (Kalksalze, ev. Alkalichloride). Ausserdem ist aber erforderlich, dass die die Gerinnung ermöglichenden Componenten in einem bestimmten Verhältniss zu einander stehen. Endlich ist die Labgerinnung nur innerhalb gewisser Temperaturgrenzen möglich.

Um also die Wirksamkeit irgend eines Stoffes auf die käsige Gerinnung der Milch festzustellen, ist einmal zu sehen, ob und wie er die einzelnen Factoren der Gerinnung verändert, dann was für einen Einfluss er auf das Verhältniss der Gerinnungsfactoren untereinander ausübt, endlich wie sich seine Wirksamkeit auf die einzelnen Factoren bei verschiedenen Temperaturgraden innerhalb der Temperaturgrenzen der Labgerinnung verhält.

Es mögen einige Versuche über den Einfluss einiger chemischen Agentien auf einzelne Gerinnungsfactoren folgen.

6) Einfluss einiger chemischer Agentien auf einzelne Gerinnungsfactoren.

a) Calciumchlorid.

Die Rolle, welche die Kalksalze bei der Labgerinnung spielen, ist noch nicht nach allen Richtungen hin festgestellt.

---

1) Ganz kürzlich hat Hillmann in einer mir leider nicht zugänglichen Zeitschrift (ref. Centralblatt f. Physiol. Bd. 11 S. 200, 1897) diese Frage vom experimentellen und praktischen Standpunkt aus behandelt und festgestellt, dass die Menge des umgewandelten Caseïns, und demnach die Menge des ge-

Boas[1]) nimmt an, dass das $CaCl_2$, zur Milch gesetzt, dem Labzymogen es möglich macht, Käse bildend zu wirken. Hammarsten[2]) und mit ihm Arthus und Pagès[3]) sind der Anschauung, dass $CaCl_2$ nicht nur das durch Lab umgeformte Caseïn ausfälle, sondern auch „auf den fermentativen Vorgang einwirke“ (Hammarsten) und „die Umformung des Caseïns durch das Lab beschleunige“ (Arthus und Pagès).

Letztere haben Versuche angestellt, welche „unwiderleglich“ beweisen sollen, dass die Kalksalze die Umformung des Caseïns durch das Lab beschleunigen.

Sie bringen zu entkalkter, mit Lab versetzter Milch zu verschiedenen Zeiten nach erfolgtem Labzusatze Kalksalze und finden, dass die Gerinnung da am raschesten eintritt, wo sie die Kalksalze am frühesten zugesetzt haben.

Einen ähnlichen Versuch, den ich mit nicht entkalkter Milch anstellte, möchte ich hier anführen.

Versuch 26.

Es werden zu je 10 ccm Milch 0,2 ccm eines sehr schwach wirksamen Labextractes zugesetzt. Verschieden lange Zeit nachher werden in die einzelnen Reagensgläser je 0,3 ccm $CaCl_2$-lösung (5%) gebracht. Temperatur des Wasserbads 37°.

Nr.	Zeit, die zwischen Lab- und Kalkzusatz zur Milch lag	Gerinnungszeit	Beschleunigung der Gerinnung gegenüber Nr. 7
1	3 Minuten	1 Stunde 13 Minuten	+ 27 Minuten
2	5 „	1 „ 13½ „	+ 26½ „
3	9 „	1 „ 16½ „	+ 23½ „
4	15 „	1 „ 18 „	+ 22 „
5	25 „	1 „ 25 „	+ 15 „
6	40 „	1 „ 33 „	+ 7 „
7	60 „	1 „ 40 „	—

Arthus und Pagès erwähnen noch einen weiteren Versuch, den sie in der Art anstellten, dass sie Milch von verschiedenem

bildeten Käses mit der Menge der Kalksalze zunimmt, eine für die Käserei höchst interessante Thatsache.

1) Vgl. Citat diese Arbeit S. 9. Labferment u. s. w. S. 259.
2) Vgl. Citat diese Arbeit S. 6. Zur Kenntniss u. s. w. S. 61.
3) Vgl. Citat diese Arbeit S. 9. Action etc. S. 337.

Kalkgehalt mit Lab versetzten[1]) und zu verschiedenen Zeiten nach erfolgtem Zusatz die Lösungen kochten. Im Moment des Kochens wird der Kalkgehalt der Mischungen überall gleich gemacht. Es ergibt sich nun, dass die durch die Hitze erhaltene Ausfällung[2]) um so grösser ist, je reichlicher die Menge der ursprünglich in der Milch enthaltenen Kalksalze war.

Was das Ergebniss dieser Versuche betrifft, so dürfte durch dieselben einzig und allein die Thatsache festgestellt sein, dass die Gerinnung um so rascher eintritt, bezw. die während des Processes der Labgerinnung gebildete Menge von Käse um so grösser ist, je mehr Kalksalze sich in der Milch befinden und je länger ihnen Zeit gegeben wird, ihre Rolle bei der Gerinnung zu spielen.

Sowohl der Process der Umformung des Caseïns durch das Lab als der Vorgang der Vereinigung von Paracaseïn und Kalksalzen braucht eine gewisse Zeit, um sich vollziehen zu können. Beide Vorgänge werden sich rascher vollziehen, wenn sie neben einander hergehen können, als wenn sie hinter einander verlegt sind.

Dass die Kalksalze nur durch Ausfällung des Paracaseïns beschleunigend wirken, ist durch diese Versuche nicht widerlegt; dass die Kalksalze den Process der Umformung des Caseïns durch Lab beschleunigen, nicht bewiesen.

Da wir also nur bestimmt wissen, ein Mal, dass die Kalksalze (innerhalb gewisser Grenzen) die Labgerinnung beschleunigen, zum andern, dass sie bei der Ausfällung des Paracaseïns betheiligt sind, weiter aber nichts, so hat die Hypothese, dass die Kalksalze durch ihre ausfällende Wirkung gerinnungsbeschleunigend wirken, am meisten für sich.

b) Verhalten des Labferments gegen Alkalien.

Der schädliche Einfluss, den stärkere Alkalien auf Pepsin ausüben, ist bekannt. Hammarsten stellte dasselbe auch für das Labferment fest. Boas[3]) gibt für das menschliche Lab an, dass „bereits ein Ueberschuss von 0,0028 KOH[4]) das Ferment zerstöre.“ Es lässt sich dies in dieser Allgemeinheit, wie gleich gezeigt werden soll, nicht aufstellen. Maly[5]) macht folgende Angabe: Schon

1) Der Zusatz von Labferment ist S. 337 der cit. Arbeit von Arthus und Pagès nicht erwähnt, ist aber offenbar zu ergänzen.

2) Die Ausfällung wäre nach Neumeister (Lehrb. d. phys. Chemie 2. Aufl. S. 241, 1897) nicht etwa ausgefälltes Paracaseïn, sondern Käse.

3) Boas, Labferment und Labzymogen S. 253.

4) Es ist wohl zu ergänzen 0,0028 „Procent“.

5) Maly, vgl. diese Arbeit S. 6. Chemie der Verdauungssäfte S. 52.

0,025 % Na_2O in der Flüssigkeit (es ist Labflüssigkeit gemeint), sind genügend binnen 24 Stunden und bei Zimmertemperatur eine kräftige Fermentlösung völlig unwirksam zu machen. Die Zahl der zerstörten Fermentmolecüle scheint dabei mit der Dauer der Einwirkung der Menge des Alkalis und der Höhe der Temperatur zu steigen.

Die Wirkung der Alkalien auf das Labferment mögen folgende zwei Versuche anschaulich machen:

Versuch 27.

Von einem genau neutralisirten Säurelabextract (Kalb) und von NaOH verschiedener Concentration werden gleiche Volumina zusammengebracht, nach verschieden langer Zeit neutralisirt und dann untersucht. Nach vollendeter Neutralisation werden die Volumina der einzelnen Mischungen auf ein gleiches Volumen gebracht und eine entsprechende Menge des verwendeten Labextracts durch Wasserverdünnung in gleicher Weise verdünnt. Mit letzterer Lösung wurde ein Probeversuch angestellt. Es werden nun von jedem Gemisch je 0,5 ccm zu 10 ccm Milch bei 37° C. im Wasserbad gebracht.

Probeversuch: Gerinnung nach 7 Minuten.

Bei Zusatz von NaOH	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Alkalisirung von			
	5 Minuten	10 Minuten	30 Minuten	60 Minuten
1/1000 n	0	0	0	0
1/100 n	— ungefähr 1/2 Minute			
1/10 n	— 41 Min.	— 4 Stunden	— 9 Stunden	— ungef. 20 St.

Die Neutralisation wurde in diesem und den folgenden Versuchen so ausgeführt, dass mit der zu neutralisirenden Flüssigkeit kleine Stückchen Phenolphtaleinpapier zerrieben wurden. Diese Mischungen wurden nachher mit Verdünnungen von HCl neutralisirt, die dem Alkaligehalt der Lösungen entsprachen.

Versuch 28.

Versuchsanordnung wie im letzten Versuch.

Probeversuch: Gerinnung nach 60 Minuten.

Bei Zusatz von NaOH	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Alkalisirung von		
	10 Minuten	20 Minuten	36 Stunden
1/500 n	— 2 Min.	— 30 Min.	— 5 3/4 Stunden
1/100 n	— 10 „	— 56 „	— 6 „
1/50 n	— 15 „	— 1 Std. 15 Min.	— ca. 24 „
1/10 n, 1/5 n, 1/1 n	Nach 2 Tagen keine Gerinnung		

Während also im ersten Versuch eine NaOH-concentration von $^1/_{100}$ n einen kaum merkbaren, schädigenden Einfluss auf das Lab ausübte, war im zweiten Versuch schon bei $^1/_{500}$ n eine sehr beträchtliche Schädigung zu beobachten.

Diese Thatsache erklärt sich einfach daraus, dass im Versuch 27 der Labgehalt des Extracts ein viel grösserer ist, als in Versuch 28.

Beide Versuche zeigen gleicher Weise, dass das Alkali eine gewisse Zeit braucht, um das Ferment zu vernichten. Es ist also durchaus nicht so selbstverständlich, im Gegentheil unrichtig, wenn Boas[1]) annimmt, dass alles Enzym zerstört sei, sobald der Mageninhalt bis zum deutlichen Ausschlag auf rothes Lackmuspapier alkalisirt sei.

Es lässt sich hiernach das Gesagte über die Wirkung der Alkalien auf das Labenzym dahin zusammenfassen:

Alkali zerstört das Lab, und zwar um so rascher und vollständiger, je schwächer die Lablösung ist, je höher die Concentration des Alkalis ist und je länger das Alkali einwirkt.

Ferner: Ein Labextract von mittlerer Wirksamkeit wird durch Zusatz eines gleichen Volumens NaOH von $^1/_{10}$—$^1/_5$ n im Verlauf von Minuten fast ganz, nach Stunden vollständig zerstört.

c) Verhalten des Labenzyms gegen Säure.

Es sind mir Angaben hierüber in der Literatur nicht aufgestossen.

Die Wirkung der Säuren auf Lab ist eine ganz ähnliche wie die des Alkalis. Auch Säure schädigt in höherer Concentration und bei genügend langer Einwirkung das Labferment. Es tritt diese nachtheilige Wirkung allerdings erst bei Concentrationen ein, die beim Arbeiten mit Lab, weder beim Extrahiren, noch beim Umformen von Prolab in Lab zur Anwendung kommen.

Versuch 29.

Von einem genau neutralisirten Glycerin-Säureextract und von HCl verschiedener Concentration werden gleiche Volumina zusammengebracht und nach verschieden langer Zeit des Zusammenstehens untersucht. Es werden von dem Gemisch einige Cubikcentimeter entnommen und neutralisirt. Nach der Neutralisation werden die Volumina der zu untersuchenden Flüssigkeiten überall auf ein und dasselbe vorher bestimmte Volumen gebracht. Jedesmal wird mit einer in gleichem

1) Boas, Vgl. S. 9 dieser Arbeit. Labferment u. s. w. S. 259.

Grade verdünnten Menge des ursprünglichen Glycerin-Säureextracts ein Probeversuch angestellt.

Probeversuch: Gerinnung nach 8½ Minuten.

Bei Zusatz von HCl	Verzögerung der Gerinnung nach einer Dauer der Ansäuerung von			
	1 Stunde	2 Tagen	10 Tagen	17 Tagen
1/10 n	0	0	0	0
1/5 n	— ca. ½ Min.	— ca. ½ Min.	— ca. ½ Min.	— 3 Min.
½ n	— 3 Min.	— 3 Min.	— 1 St. 32 Min.	— 4½ Stdn.
1/1 n	— 3 „	— 6 „	— 12 Stunden	—

Es muss jedoch bei diesen Versuchen in Betracht gezogen werden, dass Spuren von Ferment auch bei vorsichtiger Neutralisation mit Alkali zerstört werden. Die verschiedenen geringen Mengen von Kochsalz hingegen, welche sich in den Versuchen 27—29 bilden, sind von untergeordneter Bedeutung.

Pierer'sche Hofbuchdruckerei Stephan Geibel & Co. in Altenburg.